

Transplantationsversuche zur Blastemgliederung,
Regenerations- und Differenzierungsleistung
der Beinanlagen von *Culex pipiens* (L)

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophischen Fakultät II

der

Universität Zürich

von

Werner Spinner

aus

Aeugst a. A. (ZH)

1969

Begutachtet von Herrn Prof. Dr. E. HADORN

Zürich 1968



Sonderdruck aus
Wilhelm Roux' Archiv 163, S. 259—286 (1969)
Springer-Verlag, Berlin · Heidelberg · New York

Transplantationsversuche zur Blastemgliederung, Regenerations- und Differenzierungsleistung der Beinanlagen von *Culex pipiens* (L.)

WERNER SPINNER

Zoologisch-vergleichend anatomisches Institut der Universität Zürich*

Eingegangen am 24. Februar 1969

Organisation, Capacity for Regeneration and Differentiation of Leg Primordia of Culex pipiens (L.)

Summary. 1. Discs of the foreleg of *Culex pipiens* transplanted from the fourth instar of larvae into larval hosts of the same age differentiate normal adult organs.

2. Experiments in fragmentation indicate the position of the primordia of individual parts of the leg in the disc. In addition to this certain structural elements can be located within parts of the leg.

3. Among the majority of host larvae the operation results in a prolongation of the fourth larval instar. In whole discs as well as in disc fragments the sensillae often increase in number, or two groups of sensillae are formed.

4. The implanted disc fragments, after a prolonged presence in the larval host, may regenerate other regions of the disc.

5. Such new formations are the result of a *genuine regeneration*. The following reasons exclude the assumption of region-specific transdeterminations (HADORN, 1966): a) Structures which are not initially included in the potencies of the cultivated disc fragments (allotypic differentiations — HADORN, 1965a) could not be found. b) Regeneration occurs exclusively in proximo-distal direction.

6. Unlike cultures of the same kind in *Drosophila*, discs implanted into adult females show no extreme proliferative growth even after a stay in the host of several days.

7. In young adult hosts (0—13 h) several of the implanted discs are caused to form cuticular structures, or, in addition to this, imaginal bristles, trichomes and scales. Discs transplanted into older adult hosts (3 days) retain their larval character.

8. Only a small number of the discs implanted into adult hosts for 22 days are capable of differentiation of imaginal structures after retransplantation into host larvae. The other discs are either reduced inside the host larva or they only contain necrotic tissue.

Zusammenfassung. 1. Werden Vorderbeinscheiben von *Culex pipiens* aus dem mittleren 4. Larvenstadium in gleichalterige Larvalwirte implantiert, so differenzieren sie alle Strukturen, die der prospektiven Bedeutung der Scheibe entsprechen.

2. Fragmentierungsversuche zeigen die Lage der Blasteme einzelner Beinteile in der Beinscheibe. Außerdem können bestimmte Strukturelemente innerhalb der Teile lokalisiert werden.

3. Die Operation hat bei der Mehrzahl der Wirtslarven eine Verlängerung des 4. Larvenstadiums zur Folge. Sowohl bei Ganzscheiben als auch bei Scheibenfragmenten werden dann oft die Sensillen einer Gruppe vermehrt, oder es entstehen zwei Sensillengruppen.

4. Nach längerem Aufenthalt von Scheibenfragmenten im Larvalwirt können regenerative Neubildungen auftreten.

* Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. HADORN, danke ich herzlich für die Anregung und Leitung dieser Arbeit. Herrn Prof. Dr. P. S. CHEN danke ich für die Einführung in die Zuchtmethoden und die Überlassung der Mücken zucht, Herrn Dr. H. TOBLER für die kritische Durchsicht des Manuskriptes.

5. Solche Neubildungen sind das Ergebnis einer echten Regeneration. Die folgenden Gründe sprechen gegen die Annahme regionsspezifischer Transdeterminationen (HADORN, 1966): a) Differenzierungen, die der prospektiven Bedeutung der Vorderbeinscheibe nicht entsprechen (allotypische Differenzierungen — HADORN, 1965a), konnten nicht nachgewiesen werden. b) Die Regeneration erfolgt ausschließlich in proximo-distaler Richtung.

6. Beinscheiben, die in das Abdomen adulter Weibchen implantiert werden, zeigen, im Gegensatz zu gleichartigen Kulturen bei *Drosophila*, auch nach mehrtägigem Aufenthalt im adulten Wirtsmilieu kein extremes proliferatives Wachstum.

7. Das Wirtsmilieu junger Adultwirte (0–13 h) veranlaßt einen Teil der implantierten Beinscheiben zur Cuticularbildung oder zusätzlich auch zur Differenzierung imaginaler Borsten, Trichome und Schuppen. In ältere Adultwirte (3 Tage) implantierte Scheiben behalten ihren larvalen Charakter.

8. Von den Beinscheiben, die während 22 Tagen dem adulten Wirtsmilieu ausgesetzt waren, ist nach der Rücktransplantation in Wirtslarven nur noch ein kleiner Teil zur Differenzierung imaginaler Strukturen fähig. Die übrigen Scheiben werden entweder in der Wirtslarve abgebaut oder enthalten nur nekrotisches Gewebe.

Einleitung und Problemstellung

In den Imaginalscheiben verpuppungsreifer *Drosophila*-Larven sind die Zellen bestimmter Areale für bestimmte Organe determiniert. Diese Areale fügen sich mosaikartig aneinander. Ihre Anordnung kann in Fragmentierungsversuchen oder durch lokalisierte Defektsetzung mit UV ermittelt werden. Solche Anlagepläne wurden für eine Anzahl verschiedener Imaginalscheiben erarbeitet (HADORN und GLOOR, 1946; HADORN, BERTANI und GALLERA, 1949; URSPRUNG, 1957, 1959; HADORN und BUCK, 1962; GEHRING, 1966; SCHUBIGER, 1968).

Werden Scheibenfragmente in junge Larven oder in das Abdomen adulter Fliegen implantiert, setzt ein intensives proliferierendes Wachstum ein. So können Scheibenhälften nach einer zweiwöchigen Kulturdauer in einer adulten Wirtslarve annähernd die Größe einer Ganzscheibe erreichen (vgl. HADORN, 1966). Werden solche Implantate von Genitalscheiben in verpuppungsreife Larven zurück transplantiert, so metamorphosieren sie gleichzeitig mit dem Wirt und liefern einen vollständigen Geschlechtsapparat. Zu ähnlichen Ergänzungsleistungen sind auch die Labialscheiben befähigt (WILDERMUTH, 1968). Eine einzelne Scheibe bildet *in situ* nur eine Rüsselhälfte. Nach Adultkultur wird proliferierend die andere Hälfte ergänzt, so daß nun die Bildung eines ganzen symmetrischen Rüssels möglich wird. Restitutionsleistungen sind auch möglich, wenn Scheibenhälften in junge Wirtslarven zurückversetzt werden (URSPRUNG, 1959; LÜÖND, 1961).

Weitere Informationen über das Ausmaß und die Natur der Zusatzleistungen ergaben sich aus den Untersuchungen von NÖTHIGER und SCHUBIGER (1966) an männlichen Vorderbeinscheiben und an der männlichen Genitalscheibe von *Drosophila melanogaster*. Auf der Beinscheibe sind die Organanlagen asymmetrisch, auf der Genitalscheibe symmetrisch angeordnet. Im Transplantationsversuch lieferte eine längs der distal-proximal Achse halbierte Beinscheibe, auch nach starker Zellproliferation, niemals Strukturen der komplementären Partnerhälfte. Die gebildeten Organteile waren entweder vergrößert, oder es traten Doppelbildungen auf. Durch UV-Bestrahlung einzelner Anlagebereiche wurden in der symmetrischen Genitalscheibe einseitig Defekte gesetzt. Die bestrahlten Hälften differenzierten zwar einen symmetrischen Geschlechtsapparat, dem aber ein-

zelne Elemente auf beiden Seiten fehlten. Offenbar wird auch bei intensiver Zellvermehrung der Determinationszustand nur solcher Blasteme weitergegeben, die in der proliferierenden Hälfte vertreten sind. Dabei erfolgt eine Gliederung des vergrößerten Blastems in Areale ursprünglicher Größe (Homonome Arealisation — HADORN, 1964; GEHRING, 1966).

Doch kann sich der Determinationszustand proliferierender Blasteme auch ändern. So können Imaginalscheibenfragmente, die im Abdomen einer Wirtsflye proliferiert haben, Strukturen differenzieren, die nicht mehr der *autotypischen*, prospektiven Bedeutung des Blastems entsprechen (HADORN, 1963, 1964, 1965 b, 1966; SCHLÄPFER, 1963; GEHRING, 1966; TOBLER, 1966; SCHUBIGER, 1968; WILDERMUTH, 1968). Für eine derartige Änderung des Determinationszustandes zu *allotypischen* Blastemen (HADORN, 1965 a) wurde von HADORN (1965 b) der Begriff *Transdetermination* geprägt. Die Häufigkeit, mit welcher allotypische Zellverbände entstehen, ist mit der Proliferationsleistung des Blastems positiv korreliert (TOBLER, 1966).

In der vorliegenden Arbeit sollen die für *Drosophila* entwickelten Versuchsanordnungen auf das Entwicklungssystem von *Culex pipiens* übertragen werden. Es werden insbesondere folgende Fragen angegangen:

1. Vermögen in Wirtslarven transplantierte Imaginalscheiben alle Strukturen zu differenzieren, die der prospektiven Bedeutung der Scheibe entsprechen?
2. Können die verschiedenen Organanlagen in bestimmten Arealen der Imaginalscheibe lokalisiert werden?
3. Sind Imaginalscheibenfragmente zu Restitutionsleistungen fähig?
4. Welcher Art sind die Einflüsse des Adultmilieus auf implantierte Imaginalscheiben?

Material und Methode

Stamm

Der verwendete Stamm von *Culex pipiens* L. kommt ursprünglich aus dem Max-Planck-Institut für Biologie in Tübingen. Er wird seit mehreren Jahren in unserem Institut gezüchtet. Angaben über die Zuchtmethoden finden sich bei CHEN (1958), OELHAFEN (1961) und GEIGER (1961).

Transplantationen

Larven des mittleren 4. Larvenstadiums dienten als Spender der Imaginalscheiben. Eine Geschlechtsbestimmung ist in diesem Entwicklungsstadium noch nicht möglich. Wir konnten deshalb in unseren Versuchen männliche und weibliche Vorderbeinscheiben nicht auseinanderhalten. Die Bildung der Beinanlage beginnt im Laufe des 2. Larvenstadiums (IMMS, 1908; PRASHAD, 1918; CHRISTOPHERS, 1960). Sie wächst zunächst nur langsam. Erst im 4. Larvenstadium setzt ein intensives Wachstum ein, das durch zahlreiche Mitosen verursacht wird (RISLER, 1959). Dabei entsteht eine rohrähnliche, dreimal gebogene Organanlage (Abb. 7a). Während der Metamorphose differenziert sich aus dieser Anlage das adulte Bein. Eine Umkehrung in dem Sinne, daß dabei die Innenseite handschuhfingerartig nach außen gestülpt würde, kommt nicht vor (CHRISTOPHERS, 1960). Die Vorderbein-Imaginalscheibe schien uns für die Untersuchung aus folgenden Gründen besonders geeignet. Sie ist in diesem Stadium von außen sichtbar, da sie unmittelbar unter der Epidermis des Larventhorax liegt (Abb. 1). Dies schließt die Möglichkeit einer Verwechslung mit andern Imaginalscheiben aus. Zudem erleichtert eine asymmetrische Organanlage die Interpretation möglicher Restitutionsleistungen. Schließlich ist von SCHUBIGER (1968) für die männliche Vorderbeinscheibe von *Droso-*

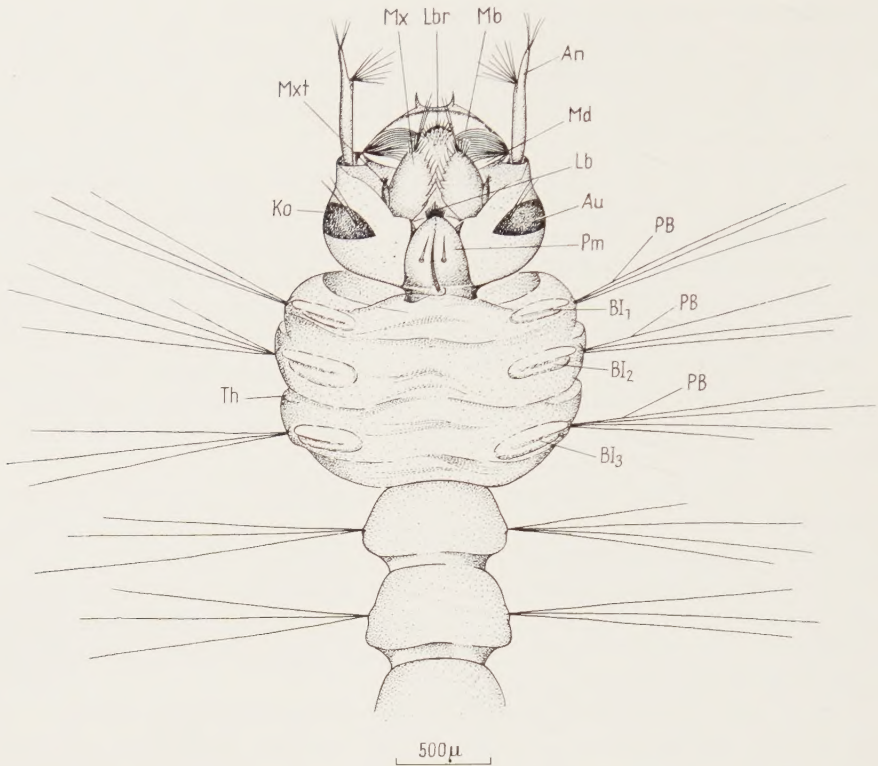


Abb. 1. Ventralansicht von Kopf (Ko) und Thorax (Th) einer Larve des 4. Stadiums. Im Thorax sind die Beinimaginalscheiben erkennbar (BI_1 bis BI_3 : Vorder-, Mittel- und Hinterbein). An Antenne, Au Auge, Lb Labium, Lbr Labrum, Mb Mundbürste, Md Mandibel, Mx Maxille, Mxt Maxillartaster, Pm Postmentum, PB Pleural-Borsten

phila melanogaster ein genauer Anlageplan erarbeitet worden. Unsere Befunde lassen sich somit gut mit jenen an *Drosophila* vergleichen.

Wir seziierten die Spenderlarven in einem Tropfen isotonischer Insekten-Ringerlösung. Zur Fragmentation der herausgelösten Scheiben wurden feine Wolframnadeln verwendet. Dieser Arbeitsprozeß dauerte je nach Anzahl der Scheiben $1\frac{1}{2}$ — $2\frac{1}{2}$ Std. Während dieser Zeit wurden die bereits herausseziierten Beinscheiben in einer Feuchtkammer aufbewahrt. Anschließend implantierten wir sie nach der von EPHRUSSI und BEADLE (1936) eingeführten und heute allgemein üblichen Technik in gleichalterige Wirtslarven oder in das Abdomen adulter Weibchen. In Anlehnung an die Befunde von HADORN und GARCIA-BELLIDO (1964), wonach die Implantate in befruchteten Weibchen am stärksten proliferieren, gaben wir immer einige Männchen zu den Wirtweibchen.

Die Überlebensrate bei den Implantationen in weibliche Imagines betrug 100%. Dagegen war sie bei den im Wasser lebenden Larven gering. Sie betrug anfänglich 20—25%, konnte dann aber im Laufe der Zeit auf 40—50% gesteigert werden. Damit sich die Tiere während der Operation ruhig verhielten, mußten sie narkotisiert werden. Für die Larven verfuhrten wir dabei nach dem in Abb. 2 dargestellten Schema. Ein mit Zementit umrandeter Objektträger diente als „Narkotisierwanne“. Wir übertrugen mit einer Pipette mehrere Larven aus dem Zuchtglas auf diesen Objektträger. In einen zylindrischen Tubus steckten wir einen mit Äther durchtränkten Wattebausch, schoben die „Narkotisierwanne“ hinein und verstopften die Öffnung mit einem Korkzapfen. Nach 4 — $4\frac{1}{2}$ min bewegten sich die Larven nicht mehr.

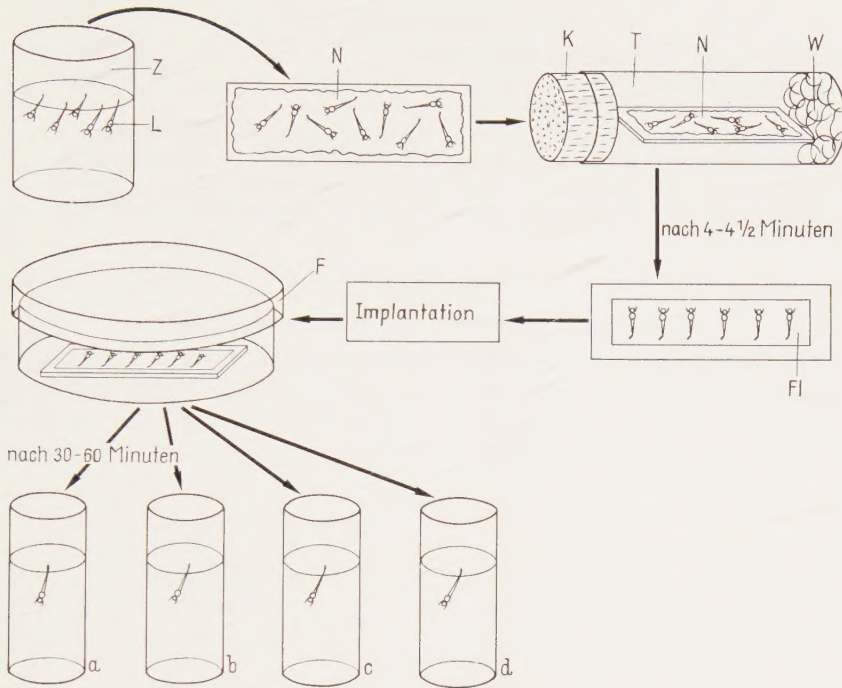


Abb. 2. Schematische Darstellung des Arbeitsganges für die Transplantation von Beinimaginalscheiben in Larvalwirte. Z Zuchtglas, L Larven, N Narkotisierungswanne, K Korkzapfen, T Glastubus, W Wattebausch (mit Äther durchtränkt), Fl Fließpapier (feucht), F Feuchtkammer, a—d Einzelzuchten

Ein weiterer Objektträger wurde mit einem feuchten Fließpapier belegt. Wir fischten darauf mit einem weichen Pinsel die bewegungslosen Larven sorgfältig aus der „Narkotisierungswanne“ und legten sie in einer Reihe auf das Fließpapier. In dieser Lage operierten wir die Tiere. Nach der Implantation der Spenderscheiben konnten die Larven wegen der offenen Wunde nicht sogleich ins Wasser zurückgebracht werden. Wir durchtränkten das Fließpapier nochmals völlig mit Wasser und legten den Objektträger mit den Larven für $\frac{1}{2}$ —1 Std in die Feuchtkammer. Während dieser Zeit trocknet die Hämolymphe ein und verschließt die Wunde mit einer harten Kruste. Da bei der Operation ziemlich viel Hämolymphe aus den Larven austritt, kleben die Tiere in der Feuchtkammer auf ihrer Unterlage fest. Es mußte deshalb darauf geachtet werden, daß die Tiere sehr sorgfältig vom Fließpapier abgelöst wurden, damit das Atemrohr unverletzt blieb.

Alle Kulturen hielten wir bei 25° C. Die Wirtslarven fütterten wir mit gemahlenem Hundekuchen; die Imagines erhielten Zuckerwasser.

Dauerpräparate

Die metamorphosierten Implantate seziierten wir aus dem Abdomen der geschlüpften Wirtsmücke in Ringerlösung heraus. Sie wurden in einen Tropfen Fauresche Lösung übertragen, in kleine Stücke zerzupft und mit einem Deckglas zugedeckt. Das Auseinanderreißen des Implantates hat den Nachteil, daß die normale Aufeinanderfolge der einzelnen Beinteile nicht mehr sichtbar ist. Dies bedeutet für die nachträgliche Untersuchung der differenzierten Strukturen eine erhebliche Erschwerung. Wir konnten aber nicht darauf verzichten, da die Identifizierung einzelner Markierer nur auf diese Weise möglich war.

Versuchsserien

Es wurden folgende Versuche durchgeführt:

1. Implantation ungeteilter Scheiben in Larven.
2. Implantation von Scheibenfragmenten in Larven.
3. Implantation von Fragmenten alter Scheiben in junge weibliche Imagines.
4. Implantation von Fragmenten junger Scheiben in junge weibliche Imagines.
5. Implantation von Fragmenten alter Scheiben in alte weibliche Imagines.
6. Implantation von Fragmenten junger Scheiben in alte weibliche Imagines.

Ergebnisse

1. Strukturelemente der einzelnen Beinsegmente

Um die in den metamorphosierten Transplantaten gefundenen Beinstrukturen den einzelnen Beinsegmenten zuordnen zu können, muß nach eindeutigen morphologischen Merkmalen gesucht werden. Es sollen daher im folgenden die für eine Identifizierung geeigneten Strukturen kurz beschrieben werden (Abb. 3 und 4).

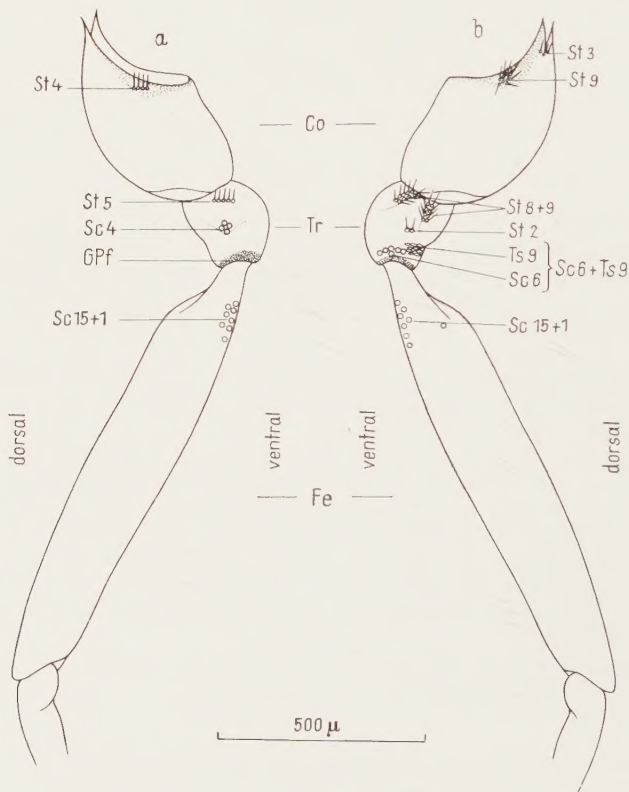


Abb. 3a u. b. Coxa (Co), Trochanter (Tr) und Femur (Fe) des weiblichen Vorderbeines von *Culex pipiens* (in situ). a Hinterseite, b Vorderseite. Markierer der Coxa: St9 Gruppe von 9 *Sensilla trichodea*; St3 Reihe von 3 *Sensilla trichodea*; St4 Reihe von 4 *Sensilla trichodea*. Markierer des Trochanter: St8+9 zwei Gruppen von 8 bzw. 9 *Sensilla trichodea*; St2 2 *Sensilla trichodea*; TS9 Gruppe von 9 ovalen Sinnesorganen (Trochanter-Sensillen); Sc6 Gruppe von 6 *Sensilla campaniformia*; St5 Reihe von 5 *Sensilla trichodea*; Sc4 Gruppe von 4 *Sensilla campaniformia*; GPf Gelenkpfanne des Trochanter zum Femur. Markierer des Femurs: Sc15+1 Gruppe von 15 *Sensilla campaniformia* und einem einzelnen *Sensillum campaniforme*

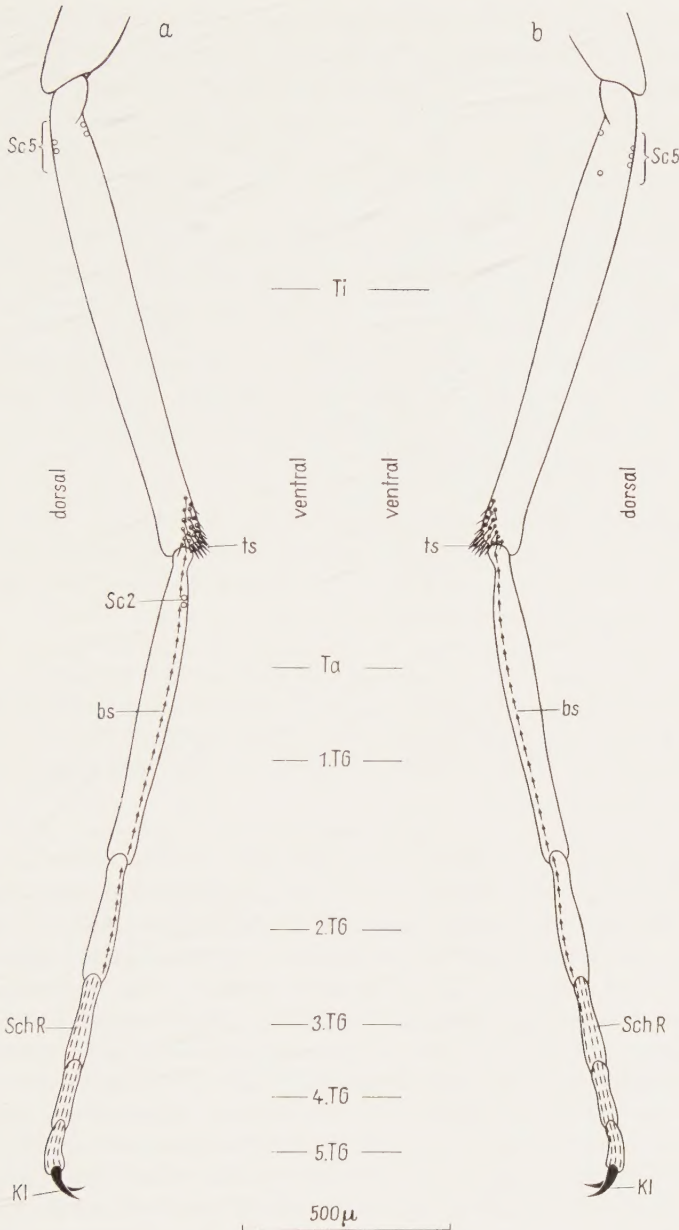


Abb. 4 a u. b. Tibia (*Ti*) und Tarsus (*Ta*) des weiblichen Vorderbeines von *Culex pipiens*.
 a Hinterseite, b Vorderseite. Markierer der Tibia: *Sc5* 5 einzelne *Sensilla campaniformia*,
ts „tibial scraper“. Markierer der 5 Tarsalglieder (1.—5. TG): *Sc2* 2 *Sensilla campaniformia*;
bs Doppelreihen der „bud like sensillae“, *SchR* Schuppenreihen; *Kl* Klaue

a) *Die Coxa*. Die proximale Hälfte der Innenseite (ventral) ist ausgeschnitten. Die Außenseite (dorsal) ist leicht gewölbt und läuft am proximalen Ende in zwei Spitzen aus. In der an den Thorax angrenzenden Randzone finden wir 3 Sensillen-

gruppen. Die größte der 3 Gruppen zählt 9 *Sensilla trichodea* (*St9*) und liegt auf der anterioren Seite. Sie wird von der cuticulären Verdickung, welche dem Coxa- rand entlangführt, umfaßt und ist deshalb eindeutig zu identifizieren. Die 3 *Sensilla trichodea* der zweiten Gruppe (*St3*) bilden eine Reihe auf der dorsalen Seite zwischen den beiden Spitzen. Die letzte Gruppe, eine aus 4 *Sensilla trichodea* bestehende Reihe (*St4*), befindet sich auf der posterioren Seite (vgl. CHRISTOPHERS, 1960).

b) *Der Trochanter*. Seine Innenseite ist lang und gewölbt, die Außenseite kurz. Die distale Gelenkpfanne (*GPf*) ist stark sklerotisiert und deshalb im Präparat leicht zu erkennen. Die übrigen Markierer des Trochanters sind Sensillengruppen. Auf der Vorderseite liegen verschiedene Gruppen im dorsalen Bereich der Distalhälfte: 2 *Sensilla trichodea* (*St2*), 6 *Sensilla campaniformia* (*Sc6*), 9 ovale Sinnesorgane (Trochanter-Sensillen = *TS9*) und ein einzelnes *Sensillum campaniforme*. Bei der Auswertung werden *Sc6* und *TS9* zusammengefaßt. Das einzelne *Sensillum campaniforme* kann als Markierer nicht verwendet werden. Zwei weitere Sensillengruppen der Vorderseite befinden sich in der proximalen Randzone. Eine Gruppe zählt 8, die andere 9 *Sensilla trichodea*; sie werden bei der Auswertung zusammengefaßt (*St8 + 9*). Auf der Hinterseite sehen wir zwei Markierer: eine Reihe, gebildet aus 5 *Sensilla trichodea* (*St5*) und eine aus 4 *Sensilla campaniformia* bestehende Gruppe (*Sc4*).

c) *Das Femur*. Das proximale Ende des Femurs ist zu einem Gelenkkopf ausgezogen. Unterhalb dieses Gelenkkopfes sind auf der Innenseite 15 *Sensilla campaniformia* zu einer Gruppe vereinigt. Auf der Vorderseite steht auf gleicher Höhe ein einzelnes *Sensillum campaniforme*. Diese Markierer, die wir mit *Sc15 + 1* bezeichnen, sind die einzigen Strukturen, die wir für eine Identifizierung des Femurs heranziehen können.

d) *Die Tibia*. Dieser enge, lange und zylindrisch geformte Beinteil besitzt ähnlich dem Femur nur wenig gute Markierer. Im proximalen Bereich liegen zerstreut 5 *Sensilla campaniformia* (*Sc5*), nämlich 2 auf der Ventralseite, 2 auf der Dorsalseite und 1 auf der Vorderseite. Das distale Ende der Tibia ist gekennzeichnet durch ein dreieckiges Feld eng stehender Borstenreihen. Dabei fällt eine Reihe starker Borsten auf, die heller sind, besonders eng stehen und keinen richtigen Sockel besitzen. Diese Reihe, die als „tibial scraper“ (*ts*) bezeichnet wurde (MARSHALL, 1966), hat sich als sehr geeigneter Markierer erwiesen (Abb. 5).

e) *Der Tarsus*. Der Tarsus ist fünfgliederig. Die Gliedlänge nimmt vom 1. bis zum 5. Glied etwas ab. Eine Ausnahme macht das 4. Tarsusglied des Männchens, das nur knapp halb so lang ist wie das letzte. Gute Markierer sind die „bud like sensillae“ (*bs*; MENON, 1951) auf der Ventralseite der ersten beiden Tarsalglieder. Es sind gewöhnliche Borsten, die an ihrem Grunde von zwei sklerotisierten Blättchen, den sog. „Stipulae“ eingeschlossen werden (HALCROW, 1953). Diese Strukturen sind beim Weibchen auf beiden Segmenten in einer Zweierreihe angeordnet, beim Männchen hingegen findet sich auf dem zweiten Segment nur eine Reihe. Es wird angenommen, daß es sich dabei um Tastsinnesorgane handelt (MENON, 1951; HALCROW, 1953). Am proximalen Ende des ersten Tarsalgliedes liegen zwischen diesen beiden Reihen 2 *Sensilla campaniformia* (*Sc2*). Die Tarsalglieder 3—5 lassen sich meist auf Grund der in Längsreihen angeordneten Schuppen identifizieren (*SchR*). Allerdings ist eine Unterscheidung der einzelnen

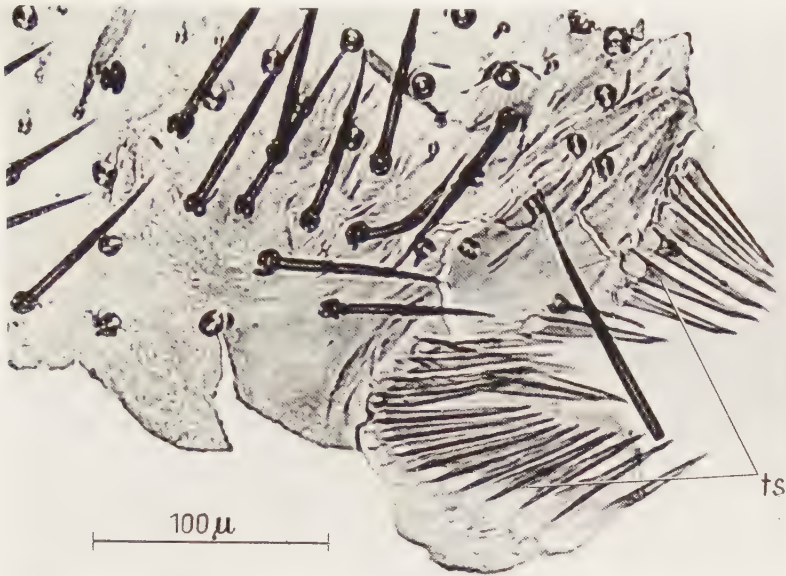


Abb. 5. Markierer des distalen Tibiaendes. *ts* „tibial scraper“

Glieder nicht möglich, wenn sie im Implantat nicht mit den ersten beiden Tarsalgliedern zusammenhängen. Nur das 5. Tarsusglied ist eindeutig von den übrigen Tarsalgliedern zu unterscheiden, sofern die endständige Klaue mit dem *Pulvillus* vorhanden ist (*Kl*).

2. Entwicklungsleistungen ungeteilter Beinimaginalscheiben

Diese Versuche sollen zeigen, ob und in welcher Weise implantierte Ganzscheiben durch die Implantationstechnik und die isolierte Lage im Wirtsabdomen in ihren Entwicklungsleistungen beeinflusst werden. Wir operierten 150 Larven. Daraus konnten 30 (20%) Präparate gewonnen werden. In Tabelle 1 sind die prozentualen Häufigkeiten der gefundenen Markierer zusammengestellt. Dabei sind die beiden kleinen Sensillengruppen der Coxa *St3* und *St4* in einer einzigen Kolonne zusammengefaßt, weil es oft nicht möglich ist, die beiden Gruppen voneinander zu unterscheiden. Aus der Tabelle ist folgendes ersichtlich:

1. Alle für die Identifizierung verwendeten Strukturen werden auch im Implantat ausgebildet. Diese Tatsache beweist, daß die Entwicklungspotenzen der Blasteme durch die Transplantation in qualitativer Hinsicht nicht eingeschränkt werden.

2. Keiner der verwendeten Markierer wird in allen Implantaten gefunden. Zur Erklärung dieser Feststellung lassen sich zwei mögliche Gründe anführen. Zunächst sind fast in allen Implantaten Teile zu finden, die keine imaginalen Strukturen zu differenzieren vermochten. Es ist deshalb denkbar, daß sich Primordien einzelner Markierer in solchen undifferenzierten Teilstücken befinden. Eine weitere mögliche Fehlerquelle liegt in der Präparationstechnik. Wie bereits erwähnt, mußten die heraussezierten Implantate in kleine Stücke zerlegt werden.

Tabelle 1. Prozentuale Häufigkeiten der differenzierten Markierer bei Transplantationen ungeteilter Beinimaginalscheiben in Wirtslarven. Für die Markierer wurden dieselben Abkürzungen verwendet wie in Abb. 3 und 4. $n = 30$

Coxa	Trochanter					Femur		Tibia		Tarsus				
	St 9 (%)	St 8 + 9 (%)	St 5 (%)	St 4 (%)	St 2 (%)	St 6 + Ts 9 (%)	GPf (%)	St 15 + 1 (%)	St 5 (%)	ts (%)	St 2 (%)	bs (%)	Sch R (%)	Kl (%)
70	83	87	73	67	87	83	90	97	63	53	57	60	70	40

Dabei läßt sich nicht verhindern, daß die Gewebestücke im Präparat einander manchmal gegenseitig überlappen. Deshalb können einzelne Abschnitte nicht ganz sicher als „markiererfrei“ gelten, obwohl dort keine Markierer festzustellen sind.

3. In den 30 Präparaten sind nicht alle Markierer gleich häufig zu finden. Dies rührt teilweise davon her, daß nicht alle Markierer gleich leicht zu identifizieren sind. So sind beispielsweise *St 5* und *Sc 4* nur dann im Mikroskop erkennbar, wenn der Integumentsteil, auf dem sie liegen, im Präparat allein und schön ausgebreitet ist. Dagegen sind *GPf* und *Sc 15 + 1* auch dann zu sehen, wenn sie von einem anderen Teil überdeckt werden.

4. Distale Beinstrukturen fehlen häufiger als proximale. Dies ist durch die Lage der Primordien im Larventhorax und durch die Implantationstechnik bedingt (vgl. Abb. 7a). Die Beinimaginalscheibe liegt in der Peripodialhöhle und ist an ihrem proximalen Ende mit der Peripodialmembran verbunden. Diese verläuft eng an die Scheibe angeschlossen bis zur Invaginationsstelle und geht dann in die Larvenepidermis über (IMMS, 1908; PRASHAD, 1918). Das distale Beinscheibenende bleibt mit der Invaginationsstelle verbunden (CHRISTOPHERS, 1960). Die Beinscheibe muß beim Heraussezieren von der Larvenepidermis abgelöst werden. Dabei reißt manchmal ein kleines Scheibenstück ab und bleibt an der Epidermis hängen. Auf diese Weise können dem Transplantat Primordien distaler Beinteile verloren gehen.

Wird die Scheibe in die Transplantationsnadel aufgesaugt, kann es vorkommen, daß kleine Scheibenstückchen nicht in die Nadel gelangen. Wiederum sind es eher distale Abschnitte die in der Ringerlösung zurückbleiben.

Aus Abb. 6 ist ersichtlich, wie lange sich die Implantate in der Wirtslarve befanden, bis sich diese verpuppte. Auf der Ordinate sind die verwendeten Markierer aufgetragen; auf der Abszisse ist die Aufenthaltsdauer der Implantate im Larvenwirt angegeben. Jedes Quadrat entspricht einem festgestellten Markierer. Alle im gleichen Präparat gefundenen Markierer sind senkrecht übereinander angeordnet. Das 4. Larvenstadium dauert bei Kontrolltieren $4\frac{1}{2}$ bis 6 Tage. Dieses Stadium ist bei den operierten Tieren im allgemeinen stark verlängert. So dauerte bei 23 Wirtslarven (77%) die Zeitspanne zwischen Implantation und Verpuppung 7 und mehr Tage. In einer Kontrollserie wurde den Larven nur Ringerlösung injiziert. Bei diesen Tieren war die gleiche

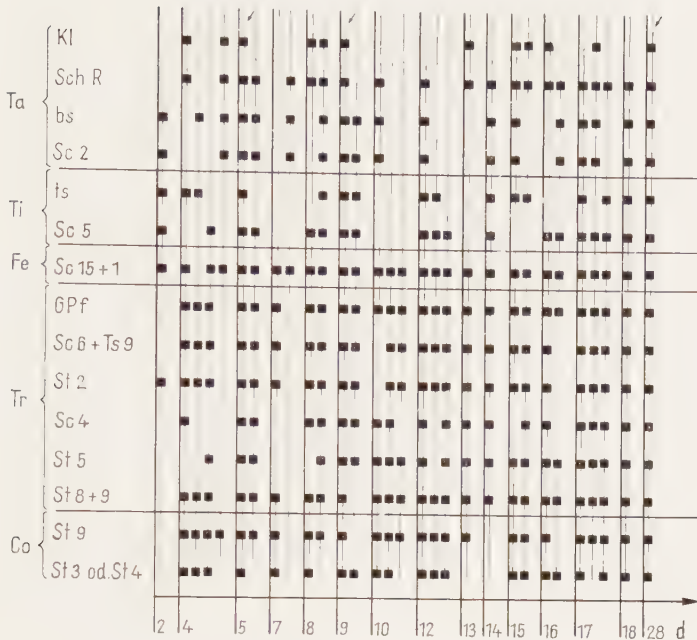


Abb. 6. Aufenthaltsdauer im Larvalwirt in Tagen (*d*) und Differenzierungsleistung ungeteilter Beinimaginalscheiben, angegeben für 30 Einzelimplantate. Auf der Ordinate sind die Markierer aufgetragen (vgl. Abb. 3 und 4). Quadrate, die durch eine senkrechte Linie verbunden sind, charakterisieren Strukturen die zusammen im gleichen Implantat vorkommen. *Co* Coxa, *Tr* Trochanter, *Fe* Femur, *Ti* Tibia, *Ta* Tarsus. ↓ Implantate, die alle Markierer differenzierten. Weitere Erklärungen im Text

Verlängerung der Larvenzeit festzustellen. Dies zeigt, daß die Operation, und nicht etwa das implantierte Gewebe, für die Verlängerung des vierten Larvenstadiums verantwortlich ist.

Die Leistungen der implantierten Blasteme zeigen, daß eine fünftägige Aufenthaltszeit im Larvalwirt genügt, um alle Markierer im gleichen Implantat auszubilden. Bei jenen Implantaten, die 4 Tage im Larvalwirt verbrachten, finden wir auch schon alle Markierer, doch sind sie auf die 3 Präparate verteilt. Grundsätzlich können also nach viertägiger Aufenthaltsdauer in der Wirtslarve alle Markierer differenziert werden.

Bei Implantaten mit verlängerter Aufenthaltsdauer im Larvalwirt können wir eine Vermehrung der Sensillenzahlen feststellen (Tabelle 2). In einigen Fällen kommt es zur Aufgliederung der vergrößerten Sensillengruppe in zwei Sensillenfelder ursprünglicher Größe. Dieser Aufgliederungsprozeß wird von HADORN (1964) und GEHRING (1966) *homonome Arealisation* genannt. Die beobachteten Mehrleistungen mögen ähnlich wie bei den entsprechenden Experimenten an *Drosophila* (S. 260) auf Vergrößerung determinierter Blasteme beruhen. Dabei könnte eine durch die Technik beigefügte „Verletzung“ der betreffenden Areale Anlaß zur Proliferation sein.

Tabelle 2. Vermehrung der Sensillenzahlen einzelner Markierer bei verlängertem larvalen Aufenthalt der Implantate. Für die Markierer wurden dieselben Abkürzungen verwendet wie in Abb. 3. Die Sensillenzahlen *in situ* sind in Klammern angegeben

Aufenthaltszeit im Larvalwirt in Tagen	Gefundene Sensillenzahlen		
	Coxa (St 9)	Trochanter (St 8 + 9)	Femur (Sc 15 + 1)
12	8 + 9	8 + 9	15 + 1
14	9	8 + 9	21 + 1
15	12	9 + 9	15 + 1
15	13	9 + 9	15 + 1
17	9	8 + 9	25 + 1
17	12	12 + 12	22 + 1
18	9	20 + 22	17 + 1
28	9 + 9	8 + 9; 8 + 10	17 + 1

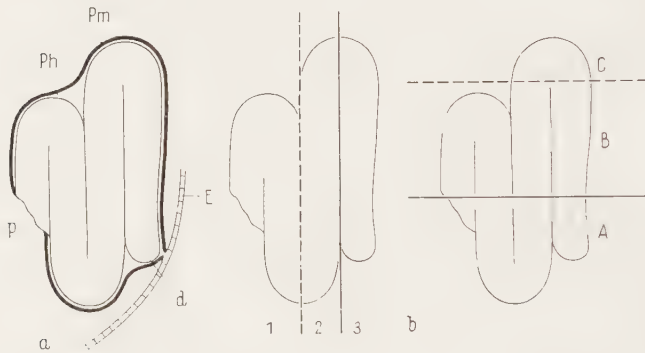


Abb. 7 a u. b. Fragmentierungsschema zur Ermittlung des Anlageplanes. a Ganzscheibe. p proximales Scheibenende, d distales Scheibenende, Ph Peripodialhöhle, Pm Peripodialmembran, E Epidermis der Larve. b Bezeichnung der Fragmente

3. Fragmentierungsversuche

Zur Ermittlung des Anlageplanes wurden die Imaginalscheiben durch Schnitte in Teilstücke zerlegt (Abb. 7b). Tabelle 3 zeigt die prozentualen Häufigkeiten der vorhandenen Markierer nach erfolgter Metamorphose. Abschnitt C haben wir nicht in die Tabelle aufgenommen, da die Anzahl auswertbarer Implantate zu klein ist: Von 72 operierten Wirtslarven starben 31. Nach der Metamorphose enthielten von den restlichen 41 Tieren nur 15 ein Implantat. Schließlich gelang es einzig in 2 Fällen, die gefundenen Beinfragmente einem bestimmten Beinteil *in situ* zuzuordnen. In den übrigen Implantaten fehlten die notwendigen Markierer.

HADORN und seine Mitarbeiter stellen bei ihren Transplantationsexperimenten an *Drosophila* immer wieder fest, daß kleine implantierte Scheibenabschnitte nach erfolgter Metamorphose der Wirtslarve nicht mehr zu finden sind. Beim Abschnitt C handelt es sich um das kleinste implantierte Scheibenfragment. Es wäre nun auch hier denkbar, daß dieses Scheibenstück in vielen Fällen im Wirts-

tier abgebaut worden ist. Damit könnte erklärt werden, daß von 41 Tieren 26 kein Implantat enthielten.

a) *Die Coxa*. Alle 3 Sensillengruppen der Coxa (*St3*, *St4*, *St9*) liegen in der proximalen Randzone dieses Beinteiles. Tabelle 3 zeigt, daß die Primordien der Coxa in Fragment 1 (Abb. 7b) lokalisiert sind. Das gelegentliche Auftreten der Markierer in Fragment 2 führen wir auf Schnittfehler zurück. Eine genauere Lagebestimmung innerhalb Fragment 1 gelang nur für die beiden Sensillenreihen *St3* und *St4*. Diese werden zu 40% in Fragment A und zu 55% in Fragment B protokolliert. Ihre Anlagen müssen folglich in der Region jener Schnittebene liegen, die Fragment A von Fragment B abtrennt. Wie wir später sehen werden, liegen in der distalen Hälfte von Fragment 1 die Femuranlagen. Wir können deshalb die Primordien für *St3* und *St4* am proximalen Ende der Scheibe in den Anlageplan eintragen (Abb. 8).

Die Gruppe der 9 *Sensilla trichodea* erscheint wesentlich häufiger in Fragment B als in Fragment A. Ihre Anlage liegt in der proximalen Hälfte von Fragment 1.

b) *Der Trochanter*. Der Tabelle 3 entnehmen wir, daß die Markierer des Trochanters vorwiegend von den Fragmenten 1 und B gebildet werden. Die Trochanterprimordien sind also in der proximalen Hälfte von Fragment 1 lokalisiert.

c) *Das Femur*. Die Anlagen für die 15 *Sensilla campaniformia* und das einzelne *Sensillum campaniforme* (*Sc15 + I*) liegen ebenfalls in der proximalen Hälfte von Fragment 1 (Tabelle 3). Diese Markierer befinden sich *in situ* am proximalen Ende des Femurs (Abb. 3). Wie weit sich die Femuranlagen in der Scheibe nach distal erstrecken, kann erst nach der Lokalisierung der Tibia-primordien abgeklärt werden, da auf dem Femur weitere Markierer fehlen.

d) *Die Tibia*. Die Tibia trägt *in situ* sowohl am proximalen wie am distalen Ende brauchbare Markierer. Der proximale Abschnitt wird durch die 5 *Sensilla campaniformia* gekennzeichnet (Abb. 4, *Sc5*). Diese Strukturen werden vor allem von den Fragmenten 2, 1 + 2, A, B und B + C gebildet (Tabelle 3). Bedeutend seltener sind sie in Fragment 1 vertreten, und sie fehlen schließlich in Fragment 3 vollständig. Wir ziehen daraus zunächst den Schluß, daß die Anlagen für die 5 *Sensilla campaniformia* in Fragment 2 liegen. In den 3 Fragmenten A, B und B + C tritt dieser Markierer etwa gleich häufig auf. Dies bedeutet, daß diese Organanlage durch den Schnitt zwischen Fragment A und B geteilt, oder aber bald dem einen, bald dem andern Fragment zugeteilt wird. Die Primordien für den Markierer *Sc5* sind somit im Anlageplan im Bereiche der Schnittebene, die Fragment A und B trennt, einzutragen. Damit ist zugleich das distale Ende der Femuranlage festgelegt (Abb. 8).

Der „tibial scraper“ (*ts*) als Markierer des distalen Tibiaendes (Abb. 4) läßt sich vor allem in den Fragmenten 2, 1 + 2 und B + C nachweisen (Tabelle 3). Etwas weniger häufig wird er auch von Fragment B, noch seltener von den Fragmenten 1 und A gebildet. Schließlich fehlt er in Fragment 3 gänzlich. Die Anlage für diesen Markierer ist offenbar ebenfalls in Fragment 2 lokalisiert. Ihre genauere Lage innerhalb dieses Fragmentes wird aus dem Vergleich der Entwicklungsleistungen der beiden Fragmente B und B + C deutlich. Der „tibial scraper“ wird von Fragment B + C wesentlich häufiger differenziert als von Fragment B. Seine

Tabelle 3. Prozentuale Häufigkeiten der ausgebildeten Markierer in den Fragmentierungsversuchen, n Anzahl metamorphosierter Implantate. Die Lage der Fragmente ist in Abb. 7 angegeben; die Abkürzungen für die Markierer finden sich in Abb. 3 und 4. Frequenzen für fragmentfreie Strukturen sind in Klammern angegeben

Frag- ment	n	Coxa		Trochanter			Femur			Tibia		Tarsus		
		St 3 oder St 4 (%)	St 9 (%)	St 8 + 9 (%)	St 5 (%)	St 4 (%)	St 2 (%)	St 6 + TS 9 (%)	GPf (%)	Sc 5 (%)	ts (%)	Sc 2 (%)	bs (%)	Sch R (%)
1	40	70	80	93	63	55	65	85	70	(33)	(13)	(10)	(10)	(8)
2	19	(5)	(5)	(16)	(11)	—	—	—	(11)	79	84	84	90	(11)
3	14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	36	86
1 + 2	12	75	75	83	67	50	58	83	83	67	75	75	83	(17)
A	40	40	(25)	(23)	(25)	(13)	(28)	(30)	(25)	73	(15)	(15)	(15)	(13)
B	11	55	64	73	36	36	55	64	45	82	(36)	(27)	45	43
B + C	28	57	64	68	54	50	50	54	54	68	61	71	75	46

Anlage liegt somit distal der Schnittebene, die diese beiden Fragmente trennt (Abb. 8). Immerhin wird der „tibial scraper“ recht oft auch von Fragment B gebildet. Könnte für diese Erscheinung noch eine ungenaue Schnittführung verantwortlich gemacht werden, so genügt diese Erklärung für das Auftreten dieses Markierers in Fragment A nicht mehr. Der Schnitt, welcher Fragment A von der übrigen Imaginalscheibe abtrennt, liegt zu weit von der „tibial scraper“-Anlage entfernt. Die Erklärung dieser „Ausnahmen“ soll später (S. 277) erfolgen.

e) *Der Tarsus*. Die beiden *Sensilla campaniformia* (Sc2) befinden sich *in situ* im proximalen Abschnitt des ersten Tarsalgliedes (Abb. 4). Im Fragmentierungsversuch erscheinen sie nach erfolgter Metamorphose vor allem in den Fragmenten 2, 1 + 2 und B + C (Tabelle 3). Ihre Anlagen müssen folglich am distalen Ende von Fragment 2 liegen. Ähnliches gilt für die „bud like sensillae“ (bs), die *in situ* die ersten beiden Tarsalglieder belegen. Allerdings erstreckt sich die Anlage dieser Markierer hinein in Fragment 3. Die Lage der Primordien für die ersten beiden Tarsalglieder wird durch die beiden auswertbaren Präparate aus Fragment C bestätigt. In beiden Fällen wurden die 2 *Sensilla campaniformia* (Sc2) und die „bud like sensillae“ (bs) gebildet.

Von Fragment 3 werden häufig die Schuppenreihen und die Klaue differenziert. Es enthält also die Primordien der Tarsalglieder 3—5. Da die Klaue vorwiegend von Fragment A gebildet wird, muß ihre Anlage am distalen Ende der Beinimaginalscheibe liegen.

Ähnlich wie für den distalen Markierer der Tibia, sind auch für die Tarsusmarkierer „Ausnahmen“ zu finden, die sich nicht durch Schnittfehler erklären lassen. So werden die beiden *Sensilla campaniformia* (Sc2) sowie die „bud like sensillae“ (bs) in geringer Anzahl auch von Fragment A gebildet. Wir werden später nochmals darauf zurückkommen (S. 277).

4. Die Anordnung der Organanlagen in der Vorderbeinscheibe

Die Ergebnisse der Fragmentierungsversuche erlauben uns nun, einen Anlageplan für die Vorderbeinscheibe aufzustellen (Abb. 8). In den Windungen der zusammengefalteten Scheibe ist schon die längliche Form des späteren Organes erkennbar. Die Sequenz der Primordien in der gefalteten Beinscheibe stimmt weitgehend mit der Reihenfolge und Lage der Organe *in situ* überein. Proximal gelegene Beinsegmente wie Coxa und Trochanter sind auch in der Scheibe in proximalen Abschnitten angelegt. Dann folgen in proximo-distaler Reihenfolge die Primordien des Femurs, der Tibia und des Tarsus.

5. Beziehungen zwischen Aufenthaltsdauer der Implantate im Larvalwirt und Differenzierungsleistungen

Wir haben bei der Implantation ungeteilter Beinimaginalscheiben festgestellt, daß das 4. Larvenstadium des Wirtes durch die Operation oft verlängert wird. Die Ergebnisse der Fragmentierungsversuche haben weiter gezeigt, daß einzelne Fragmente nach erfolgter Metamorphose Markierer enthalten, deren Primordien gemäß Anlageplan in andern Scheibenabschnitten lokalisiert sind. Wir fragen uns nun, ob und in welcher Weise das Auftreten solcher „Ausnahmen“ mit der Aufenthaltsdauer der Implantate im Larvenwirt zusammenhängt.

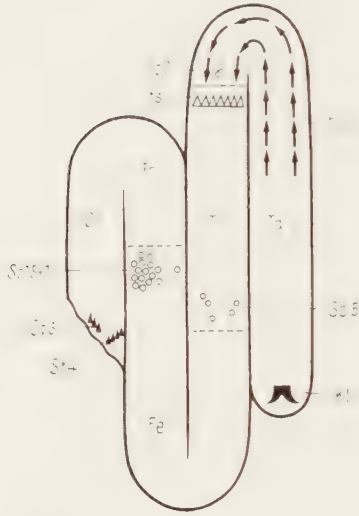


Abb. 8. Anlageplan der Vorderbeinscheibe. Die Abkürzungen der Markierer können Abb. 3 und 4 entnommen werden. Co Coxa, Tr Trochanter, Fe Femur, Ti Tibia, Ta Tarsus

Auf Grund des Anlageplanes (Abb. 8) befinden sich in Fragment 1 (Abb. 7b) die Primordien der Coxa, des Trochanter und der proximalen Femurhälfte. Nun liefert das Teilstück im Fragmentierungsversuch aber auch Strukturen der Tibia und des Tarsus, Strukturen also, die nicht der prospektiven Bedeutung dieses Implantates entsprechen (Tabelle 3). Die Häufigkeit, mit welcher diese fragment-fremden Markierer auftreten, nimmt in proximo-distaler Richtung ab.

Die Transplantationsversuche mit ungeteilten Beinscheiben haben gezeigt, daß dem Implantat eine larvale Aufenthaltszeit von vier Tagen genügt, um alle Beinsegmente zu differenzieren (Abb. 6). Der Abb. 9 entnehmen wir, daß Fragment 1 die 5 *Sensilla campaniformia* (*Sc5*) der Tibia erst nach einer larvalen Aufenthaltsdauer von 6 Tagen zu bilden vermag. Der „tibial scraper“ (*ts*), als distaler Markierer der Tibia, erscheint neben *Sc5* nach einer Aufenthaltsdauer von 8 Tagen. Dauert die Larvenzeit noch länger (12 Tage), so werden zusätzlich zu den beiden Tibiamarkierern auch proximale Tarsuselemente wie die 2 *Sensilla campaniformia* (*Sc2*) und die „bud like sensillae“ (*bs*) differenziert. Schließlich liefern metamorphosierte Fragmente, die 13 bzw. 20 Tage in einem Larvalwirt waren, sowohl die 5 *Sensilla campaniformia* und den „tibial scraper“, die 2 *Sensilla campaniformia* und die „bud like sensillae“ der ersten beiden Tarsusglieder als auch Strukturen der Tarsalia 3—5. Wir sehen also, daß mit zunehmender larvaler Aufenthaltsdauer auch zunehmend distaler liegende Strukturen differenziert werden. Daneben sind auch die proximalen Elemente in jedem Falle vorhanden. Eine Ausnahme in dieser Hinsicht macht einzig ein Implantat, das sich während 10 Tagen im larvalen Milieu befand. Neben den Sensillengruppen der Coxa und einigen Trochantermarkierern sind die Schuppenreihen der Tarsalglieder 3—5 und die Klaue festzustellen. Die dazwischenliegenden Markierer des Femurs, der Tibia und des proximalen Tarsus fehlen. Wir führen dieses Ergebnis auf eine ungenaue Schnittführung zurück.

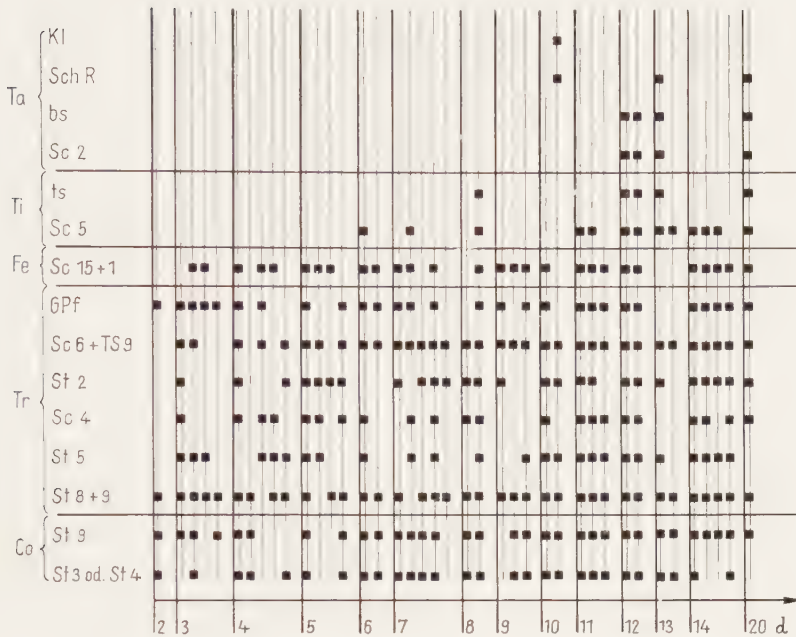


Abb. 9. Aufenthaltsdauer im Larvalwirt in Tagen (*d*) und Differenzierungsleistung von Fragment 1, angegeben für 40 Einzelimplantate. Erklärung s. Abb. 6; für die Markierer wurden dieselben Abkürzungen verwendet wie in Abb. 3 und 4

Wir haben schon bei der Besprechung der Differenzierungsleistungen ungeteilter Scheiben darauf hingewiesen, daß bei längerem larvalen Aufenthalt der transplantierten Scheiben Strukturvermehrungen auftreten können (Tabelle 2). Dieselbe Erscheinung finden wir in den Präparaten der Fragmentierungsversuche. Für Fragment 1 haben wir die gefundenen Resultate in Tabelle 4 zusammengestellt. Ein Vergleich mit Tabelle 2 (S. 270) zeigt, daß im Fragmentierungsversuch schon nach einer wesentlich kürzeren larvalen Aufenthaltszeit eine Vermehrung von Strukturen stattfindet. Die Sensillenzahlen von Coxa (*St 9*) und Femur (*Sc 15 + 1*) sind bereits nach einer viertägigen Larvalzeit erhöht, während bei der Transplantation ungeteilter Scheiben eine Vermehrung erst nach einem larvalen Aufenthalt von 12 Tagen auftritt. Aus Wachstumsuntersuchungen an Imaginalscheiben von *Drosophila* ist bekannt, daß halbierte Scheiben im Transplantationsversuch stärker proliferieren als Ganzscheiben (TOBLER, 1966). Das oben aufgezeigte unterschiedliche Verhalten von Scheibenfragmenten und Ganzscheiben deutet darauf hin, daß TOBLERs Feststellung auch für die Beinimaginalscheiben von *Culex* zutrifft.

Aus Tabelle 4 ist zudem ersichtlich, daß in allen Implantaten, die in der Differenzierungsleistung über ihre prospektive Bedeutung hinausgehen, auch die *fragmenteigenen Elemente vermehrt* werden. Diese Tatsache läßt vermuten, daß mit der Bildung zusätzlicher, nicht dem Anlagematerial entsprechender Strukturen eine erhöhte Zellteilungsaktivität einhergeht.

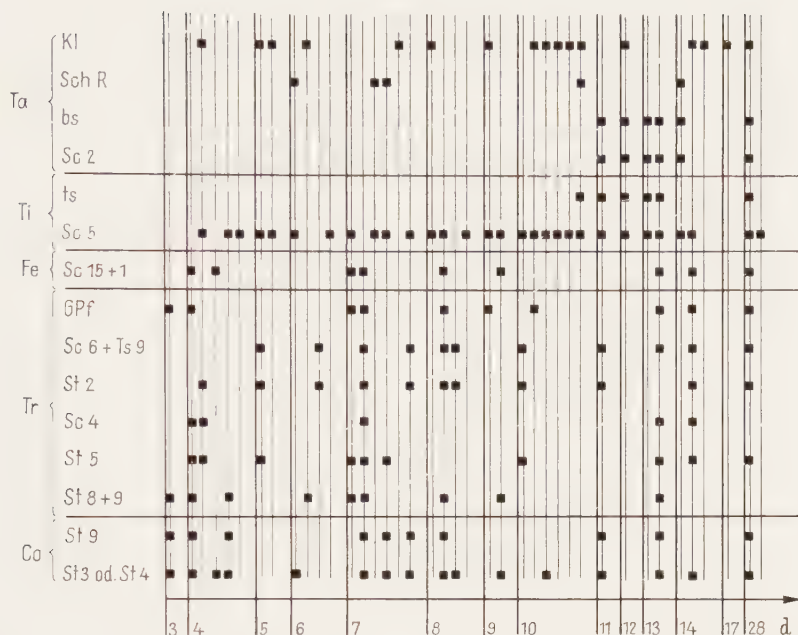


Abb. 10. Aufenthaltsdauer im Larvalwirt in Tagen (*d*) und Differenzierungsleistung von Fragment A, angegeben für 40 Einzelimplantate. Erklärung s. Abb. 6; für die Markierer wurden dieselben Abkürzungen verwendet wie in Abb. 3 und 4

Wie lassen sich die oben beschriebenen Befunde deuten? Wir sehen zwei Erklärungsmöglichkeiten:

1. Bei der Fragmentierung der Scheibe werden die Fragmente nicht sauber voneinander getrennt. Fragment I enthielte dann noch kleinere Zellgruppen der restlichen Scheibe. Während der langen Aufenthaltszeit im Larvenwirt hätten diese Blasteme die Möglichkeit zur Proliferation und könnten sich nach erfolgter Metamorphose manifestieren.

2. Die Entstehung fragmentfremder Organanlagen beruht auf einer regenerativen Neubildung.

Die Lage von Fragment A und seine Differenzierungsleistungen (Tabelle 3) erlauben uns, die erste Erklärungsmöglichkeit auszuschließen. Die Schnittebene, die Fragment A abtrennt, liegt weit von der „tibial scraper“-Anlage und den proximalen Tarsusanlagen entfernt (Abb. 7 b und 8). Es ist deshalb ausgeschlossen, daß Fragment A noch Zellen dieser Primordien enthält. Trotzdem liefert es nach erfolgter Metamorphose den „tibial scraper“ (*ts*), die 2 *Sensilla campaniformia* (*Sc* 2) und die „bud like sensillae“ (*bs*; Tabelle 3). Die Abb. 10 zeigt, daß für die Bildung fragmentfremder Strukturen eine Larvalzeitdauer von mindestens 10 Tagen notwendig ist. Dann erst treten die fragmentfremden Elemente (*ts*, *Sc* 2, *bs*) auf.

Wir fragen nun nach den metamorphosierten Partnerfragmenten B + C zu jenen 7 Fragmenten A, die fragmentfremde Strukturen differenzierten. Könnten

in diesen der „tibial scraper“ und die proximalen Tarsusmarkierer nachgewiesen werden, würde die These der regenerativen Neubildung bestätigt. Wir können nur einen Fall anführen, da die 6 andern Tiere der hohen Larvensterblichkeit zum Opfer fielen. Dieses Implantat differenzierte neben den Markierern der Coxa, des Trochanters, des Femurs und der proximalen Tibia auch die Markierer *ts*, *Sc2* und *bs*. Es sind also alle Strukturen vorhanden, die der prospektiven Bedeutung von Fragment B + C entsprechen.

Die Befunde zeigen, daß die *Differenzierung fragmentfremder Strukturen* auf einer *echten regenerativen Neubildung* beruht.

6. Der Einfluß des adulten Wirtmilieus auf die Entwicklung der Imaginalscheiben

a) *Vorversuche.* Das Abdomen adulter Weibchen von *Drosophila melanogaster* hat sich als ideales Kulturmedium für larvale Imaginalscheibenblasteme erwiesen (vgl. HADORN, 1966). Mittels geeigneter Methoden können larvale Zellverbände als proliferierende Dauerkulturen gehalten werden. Dabei zeigt sich, daß auch nach mehrjähriger Kulturdauer der larvale Entwicklungszustand der Gewebe, sowie die Vermehrungs- und Differenzierungspotenzen der Zellen erhalten bleiben.

Angeregt durch diese Erfolge wurden ganze und halbe Beinimaginalscheiben von *Culex pipiens* in das Abdomen adulter Weibchen implantiert. Nach 14tägiger Kulturdauer wurden die Abdomina geöffnet und die Implantate herausseziert. Dabei stellten wir fest:

1. Eine Zellvermehrung kann weder bei Ganz- noch bei Halbscheibenimplantaten nachgewiesen werden.

2. Während einzelne Scheiben ihren larvalen Entwicklungszustand beibehalten, zeigen andere eine beginnende Chitinisierung oder gar Differenzierungen imaginaler Strukturen, wie Borsten und Trichome.

Im folgenden soll das Verhalten der larvalen Implantate im Adultmilieu näher analysiert werden.

b) *Implantation ganzer und halbmierter Imaginalscheiben in junge Adultwirte.* Für diese Versuchsserien wurden Adultwirte verwendet, deren Alter zwischen 0 bis 13 Std (nach dem Schlüpfen) betrug. Als Implantate verwendeten wir Ganz- und Halbscheiben (Querhälften, geschnitten zwischen Femur- und Tibiaanlage; Abb. 8) einerseits aus alten Spendern (Ende 4. Larvenstadium), andererseits aus jungen Spendern (frühes 4. Larvenstadium). Es wurden 27 alte und 24 junge Ganzscheiben, sowie 26 alte und 24 junge Halbscheiben implantiert. Die Implantate wurden nach einer Kulturdauer von 22 Tagen aus den Abdomina der Wirtsmücken herausseziert und zu Präparaten verarbeitet. Wie der Abb. 11 entnommen werden kann, ist die Mehrzahl der Implantate mindestens teilweise chitiniert. Der Chitinisierungs- bzw. Differenzierungsgrad ist allerdings unterschiedlich. Während in einzelnen Implantaten nur kleine, schwach chitinierte Teile zu finden sind, zeigen andere völlig differenzierte imaginale Strukturen (Abb. 12). Abb. 11 zeigt, daß die prozentuale Chitinisierungshäufigkeit in den 4 Versuchsserien annähernd dieselbe ist. *Somit beeinflußt weder das Scheibenalter, noch die Art des Implantates (Ganz- oder Halbscheibe) die Möglichkeit der Bildung von*

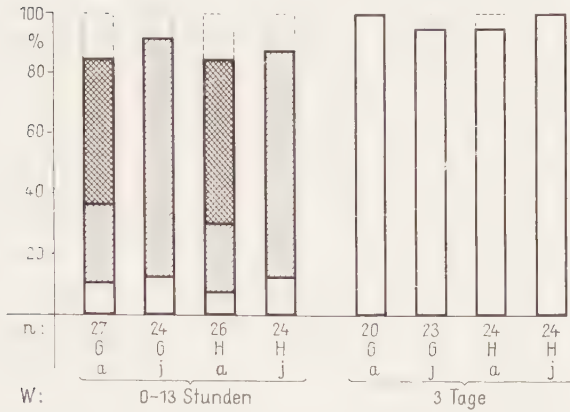


Abb. 11. Prozentuale Frequenz der Differenzierungsleistungen implantierter Ganzscheiben (G) und Scheibenhälften (H), je aus „alten“ (a) und „jungen“ (j) Spenderlarven nach 22 Tagen Aufenthalt im Adultwirt. W Wirtsalter im Zeitpunkt der Implantation; n Anzahl implantierter Scheiben. Säulenteile: leer = nicht chitiniert; schraffiert = chitiniert, davon doppelt schraffiert = imaginale Differenzierungen; Ergänzung zu 100% = Anteil nicht wiedergefundener Implantate

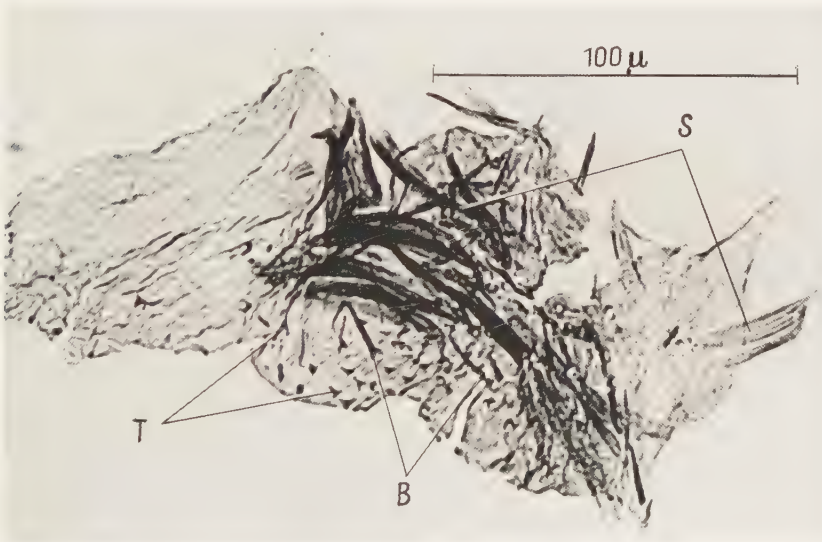


Abb. 12. Differenzierte imaginale Beinstrukturen nach einem 22tägigen Aufenthalt einer larvalen Imaginalscheibe in einer „jungen“ Wirtsmücke. B Borsten, S Schuppen, T Trichome

Cuticularbereichen. In bezug auf die weitergehenden imaginalen Differenzierungsleistungen sind dagegen Unterschiede festzustellen. Alte Imaginalscheiben differenzieren häufig Borsten und Trichome, während die jungen Imaginalscheiben in keinem Fall zu einer solchen Leistung fähig sind.

c) *Implantation ganzer und halbmierter Imaginalscheiben in alte Adultwirte.* Die Adultwirte dieser Versuchsserien waren 3 Tage alt. Es wurden 20 alte und 23 junge Ganzscheiben, sowie 24 alte und 24 junge Halbscheiben implantiert. Wiederum wurden die Implantate während 22 Tagen im Wirtsabdomen belassen. Aus der Abb. 11 ist ersichtlich, daß *kein Implantat Ansätze zur Chitinisierung* zeigt. Die implantierten Imaginalscheiben haben scheinbar ihren larvalen Charakter beibehalten. Allerdings sind die meisten Scheiben blasig aufgetrieben und enthalten oft nekrotisches Gewebe.

d) *Rücktransplantation in Larvalwirte.* Aus den eben beschriebenen Versuchsserien standen uns 89 nicht chitinsiierte Scheibenstücke zur Verfügung, die während längerer Zeit (22 Tage) dem Einfluß des adulten humoralen Milieus ausgesetzt waren. Wir transplantierten diese Scheibenstücke in Larven. Mit den Larven durchliefen sie die Metamorphose und konnten anschließend aus den Adulttieren herausseziert werden. Auf diese Weise erhielten wir Auskunft über die den Implantaten noch innewohnenden Entwicklungspotenzen.

Wie wir bereits erwähnten, enthielten die meisten Scheibenstücke nekrotische Anteile. War die ganze Scheibe von nekrotischem Gewebe durchsetzt, so wurde sie nicht weiter verwendet. Kleinere nekrotische Bezirke wurden vor der Transplantation möglichst sauber entfernt. Jene Scheiben, die zu einer großen Blase aufgetrieben waren, konnten nicht in die Transplantationsnadel aufgesaugt werden. So verblieben schließlich 35 Scheibenstücke für die Rücktransplantation. Von den Wirtslarven starben 12, bevor sie in die Metamorphose eintraten. Die noch verbliebenen 23 Implantate kamen zur Auswertung.

Nur 5 der Implantate bildeten chitinsiierte Bereiche, teils mit imaginalen Elementen (Borsten, Trichome). Die restlichen Implantate enthielten nur nekrotisches Gewebe (12 Fälle) oder waren nicht mehr zu finden (6 Fälle). Da ein differenziertes Implantatsstück bei der Sektion nicht übersehen werden kann, sind die 5 differenzierten Scheiben den 18 nichtdifferenzierten gegenüberzustellen. Dies ergibt ein Mißverhältnis von differenzierten zu nichtdifferenzierten Scheiben (22:78%), das bei direkter Implantation von Scheiben in Larvalwirte nie gefunden wird (76:24%).

Diskussion

1. Zur Frage der regenerativen Neubildungen

Fragmente von Beinimaginalscheiben, die sich als Implantate während längerer Zeit in einer Wirtslarve befanden, differenzieren mehr als ihrer prognostischen Bedeutung entspricht (S. 273). Nach erfolgter Metamorphose liefern beispielsweise Scheibenfragmente mit den Anlagen für Coxa, Trochanter und Femur auch Tibia und Tarsusstrukturen. Diese fragmentfremden Strukturen haben wir als regenerative Neubildungen gedeutet. Entsprechende Regenerationsleistungen sind auch von andern holometabolen Insektenarten bekannt. So hat VON UBISCH (1911) beim Schwammspinner *Lymantria* nachgewiesen, daß nach Exstirpation der ganzen Flügelanlage ein Flügel regeneriert wird. Allerdings darf dabei kein zu großes Stück der Epidermis aus der Umgebung der Flügelanlage mitentfernt werden (PAUL, 1937). Ein begrenztes Epidermisgebiet aus der Nachbarschaft der Flügelanlage ist für die Organisation des neuen Flügels verant-

wortlich. Seine Zellen bauen das Regenerat auf. MAGNUSSEN (1933) hat gezeigt, daß Hälften von Flügelimaginalscheiben bei Schmetterlingen fähig sind, einen vollständigen Flügel zu bilden. Dabei ist allerdings nichts bekannt über den Determinationszustand der Imaginalscheiben im Zeitpunkt der Operation.

Die Imaginalscheiben verpuppungsreifer *Drosophila*-Larven sind arealspezifisch determiniert (HADORN und BUCK, 1962; GEHRING, 1966; SCHUBIGER, 1968). Die Ergebnisse aus Mischungsversuchen liefern den Beweis, daß die regionalen Qualitäten selbst von Einzelzellen in „fremder“ Umgebung verwirklicht werden (NÖTHIGER, 1964; TOBLER, 1966; GARCIA-BELLIDO, 1966). Werden Scheibenfragmente in junge Wirtslarven oder in die Abdomina adulter Weibchen implantiert, setzt proliferierendes Wachstum ein. Dies kann zu Doppelbildungen führen. Dabei werden nur jene Elemente vermehrt, die im Anlagematerial des Fragmentes enthalten sind. Zusätzliche, über die prospektive Bedeutung des Blastems hinausgehende Bildungen wurden im allgemeinen nicht festgestellt (VOGT, 1946a; HADORN und BUCK, 1962; GEHRING, 1966; NÖTHIGER und SCHUBIGER, 1966; SCHUBIGER, 1968; WILDERMUTH, 1968). Offenbar wird bei der Proliferation der Determinationszustand der Einzelzellen durch Zellvererbung auf die Tochterzellen übertragen (HADORN, 1966; GEHRING, 1966). Diese Art der Neubildung wurde von NÖTHIGER und SCHUBIGER (1966) als *proliferative Regulation* bezeichnet.

Neben diesen autotypischen Strukturen werden von solchen Blastemen allerdings regelmäßig auch allotypische Elemente gebildet (S. 261). Transdeterminationen können auch zur Bildung scheibeneigener, autotypischer Elemente führen (HADORN, 1966; GEHRING, 1966). HADORN verwendet dafür den Terminus *regionsspezifische Transdetermination*.

Unsere Fragmentationsergebnisse haben gezeigt, daß die Organanlagen innerhalb der Vorderbeinscheibe von *Culex pipiens* begrenzte Areale umfassen. So gelingt es z.B., die Anlagen des „tibial scrapers“ (*ts*), der beiden *Sensilla campaniformia* auf dem ersten Tarsalglied (*Sc2*) und der Klaue (*Kl*) recht genau zu lokalisieren. Wir nehmen deshalb an, daß die Zellen der untersuchten Scheibe im Zeitpunkt der Operation *arealspezifisch determiniert* sind. Wie ist nun aber das Auftreten regenerativer Neubildungen zu interpretieren?

„Proliferative Regulation“ können wir ausschließen, da die Primordien der Neubildungen dem Ausgangsblastem fehlen. Es bleiben somit noch zwei Erklärungsmöglichkeiten, nämlich regionsspezifische Transdetermination oder echte Regeneration. Beide Prozesse führen zu Strukturen, die über das Differenzierungsinventar des betreffenden Fragmentes hinausgehen. Wir fragen nun: Sind in unsern Blastemen die Voraussetzungen für das Auftreten regionsspezifischer Transdeterminationen gegeben?

TOBLER (1966) hat nachgewiesen, daß Zellen stark proliferierender Blasteme häufiger transdeterminieren als andere. HADORN (1966), GEHRING (1966) und WILDERMUTH (1968) vertreten die Ansicht, der Transdeterminationsvorgang sei als „Replikationsfehler der Determinationsqualität“ aufzufassen. Wir können annehmen, daß auch in unserem Material eine zusätzliche Zellvermehrung abläuft. Wir finden nämlich in den metamorphosierten Implantaten mit regenerativen

Neubildungen immer auch eine Vermehrung fragmenteigener Strukturen. Zellteilungsvorgänge, als Voraussetzung für Transdeterminationen, wären somit nachweisbar. Andere Beobachtungen sprechen aber eindeutig gegen regionspezifische Transdetermination.

1. In unserem Material haben wir *nie allotypische Differenzierungen* feststellen können. Wir hätten folglich zu postulieren, daß unsere Blasteme nur regionspezifisch transdeterminieren. Ein solches Verhalten erscheint aber auf Grund der Erfahrungen an Imaginalscheiben von *Drosophila* als sehr unwahrscheinlich.

2. In Larvalwirte implantierte Scheibenfragmente „regenerieren“ nach kürzerem Aufenthalt in der Wirtslarve schnittnahe Strukturelemente. Erst nach längerer larvaler Aufenthaltsdauer werden *zusätzlich* zu den schnittnahen, auch distaler gelegene Strukturen differenziert (Abb. 9). Es müßten folglich mehrere, *gerichtete* Transdeterminationsschritte angenommen werden. Präsumptives Femurmateriel würde dabei in einem ersten Transdeterminationsvorgang zu proximalem Tibiamateriel, aus welchem durch weitere Transdeterminationschritte nach und nach distalere Beinqualitäten entstünden. Wohl sind gerichtete Sequenzen im Auftreten bestimmter Elemente bei den Imaginalscheiben von *Drosophila* nachgewiesen (vgl. HADORN, 1966). Dieser Richtungssinn der Transdetermination unterscheidet sich aber grundsätzlich vom Verhalten unserer Imaginalscheiben. Während aus autotypischen Analplattenblastemen der Genitalscheibe von *Drosophila* sowohl Antennen-, als auch Palpus- oder Beinanlagen entstehen können, ist bei uns das Auftreten bestimmter fragmentfremder Strukturen eindeutig voraussagbar.

3. Die „Regeneration“ erfolgt *nur in proximo-distaler Richtung*. So ist beispielsweise Fragment 3, das die Primordien der distalen Tarsalglieder enthält, zu keinen regenerativen Neubildungen fähig (Tabelle 3), obwohl 12 der 14 Implantate während 7—18 Tagen in einem Larvalwirt waren. Die Befunde an *Drosophila* zeigen aber, daß Transdeterminationen reversible Prozesse sind (HADORN, 1966; GEHRING, 1966; SCHUBIGER und HADORN, 1968). So können Flügelblasteme zu Bein- oder Antennenanlagen transdeterminieren. Dabei spielt es keine Rolle, ob diese Flügelblasteme direkt der Larve entnommen wurden, oder ob sie ihrerseits durch Transdetermination aus Bein- oder Antennenanlagen entstanden sind.

Nachdem weder „regionsspezifische Transdetermination“ noch „proliferative Regulation“ als Grundlage der beobachteten Zusatzleistungen anzunehmen ist, scheint in unserem Fall eine *echte Regeneration* vorzuliegen. An den Schnittstellen müßten undifferenzierte Blasteme entstehen, aus denen, wie in der normalen Ontogenese, in proximo-distaler Richtung sukzessive die einzelnen Beinelemente zur Differenzierung kämen. Ähnliche Regenerationsvorgänge sind von Amputationsversuchen an Insektenbeinen bekannt (vgl. WIGGLESWORTH, 1965). LÜSCHER (1948) hat an *Rhodnius* gezeigt, daß die Regenerationsleistung vom Zeitintervall zwischen Amputation und der darauffolgenden Häutung abhängig ist. Tiere, denen im 3. Larvenstadium die Tibia durchgeschnitten wird, vermögen nur dann den Tarsus zu regenerieren, wenn ihnen noch 9 oder mehr Tage bis zur nächsten Häutung bleiben. Wie wir dargelegt haben, ist auch bei unserem Ma-

terial die Regenerationsleistung vom Zeitintervall zwischen Implantation und Puppenhäutung abhängig.

2. Kultivierung von Imaginalscheiben in Adultwirten

Werden Beinimaginalscheiben von *Culex* im Abdomen adulter Weibchen kultiviert, verhalten sie sich völlig anders als Imaginalscheiben von *Drosophila* im entsprechenden Versuch. So ist bei *Culex* beispielsweise weder bei Ganzscheiben- noch bei Halbscheibenimplantaten ein extremes proliferatives Wachstum zu beobachten. Dieselbe Feststellung macht BODENSTEIN (1946) bei Transplantationsversuchen an der Gelbfieber-Mücke *Aedes aegypti*. In das Abdomen adulter Weibchen implantierte Flügel- und Beinimaginalscheiben zeigten nie ein Wachstum. BODENSTEIN glaubt, daß die Scheiben unfähig sind, auf den im Adultmilieu vorhandenen wachstumsfördernden Faktor zu reagieren. Es wäre aber auch denkbar, daß die Eiweißreserven im Mückenweibchen für ein starkes Wachstum nicht genügen, da die Tiere nach erfolgter Metamorphose nur noch mit Zuckerwasser gefüttert werden.

Andererseits hat das Alter der Wirtsweibchen einen Einfluß auf die transplantierte Scheibe. Beinscheiben, die in drei Tage alte Weibchen implantiert werden, zeigen kaum irgendwelche sichtbaren Veränderungen, abgesehen von ihrer etwas blasig aufgetriebenen Gestalt und häufigen Einlagerungen nekrotischer Zellkomplexe. Dagegen ermöglicht das Wirtsmilieu frisch geschlüpfter Weibchen eine Weiterentwicklung der implantierten Blasteme. Es können in den meisten Fällen gelblich bis bräunlich gefärbte Areale beobachtet werden, die Anfangsstadien der Chitinbildung darstellen. Einzelne Implantate vermochten gar imaginale Strukturen wie Trichome und Borsten zu differenzieren. Für larvale Augenantennen-Imaginalscheiben von *Drosophila melanogaster*, hat SCHLÄPFER (1963) nachgewiesen, daß außer der Omochrombildung und gelegentlichen Chitinisierungsansätzen keine imaginalen Elemente differenziert werden. Bei Verwendung von Beinimaginalscheiben aus der Vorpuppe beobachtete SCHUBIGER (1968) in einem Fall die Bildung von Trichomen. BODENSTEIN (1946) konnte bei seinen Transplantationsversuchen an *Aedes* weder Differenzierungen von Trichomen und Borsten, noch Ansätze zur Chitinisierung nachweisen. Die Imaginalscheiben erschienen leicht aufgebläht, behielten im übrigen aber ihren larvalen Charakter. Er vermochte selbst nach Transplantation in Puppen nur dann eine Chitinisierung festzustellen, wenn die Scheiben aus dem späten vierten Larvenstadium stammten. Imaginale Strukturen differenzierten aber auch diese Blasteme nicht. Offenbar ist bei frisch geschlüpften *Culex*-Weibchen das humorale Milieu dem larval-pupalen Milieu noch ähnlicher als bei *Drosophila melanogaster* und *Aedes aegypti*. Diese Annahme wird durch einen weiteren Befund an *Drosophila* gestützt. BODENSTEIN (1943 b) stellt fest, daß Beinimaginalscheiben im Adultwirt zu Imaginalorganen differenzieren, sofern gleichzeitig larvale Ringdrüsen mittransplantiert werden. Das experimentell „verjüngte“ humorale Adultmilieu entspräche somit jenem frisch geschlüpfter *Culex*-Weibchen. In den ersten Tagen nach der Metamorphose stellt sich dann bei *Culex* das adulte Humormilieu vollkommen ein. Nachher kommt es zu keinen Differenzierungs-

leistungen der implantierten Scheiben mehr. Das Wirtsalter hat folglich, im Gegensatz zu *Drosophila* (SCHLÄPFER, 1963), einen entscheidenden Einfluß auf die Differenzierungsleistung der larvalen Blasteme.

Wie BODENSTEIN (1946) und SCHLÄPFER (1963) zeigten, ist die Entwicklungsleistung der Implantate vom Alter der Spenderlarven abhängig. Dies gilt auch für die Beinimaginalscheiben von *Culex pipiens*. So vermögen Scheiben aus dem frühen 4. Larvenstadium nur eine schwache Chitinisierung zu erreichen. Beinscheiben aus dem späten 4. Larvenstadium hingegen sind zur Trichom- und Borstenbildung fähig. Offenbar müssen junge Scheiben zuerst ihre Larvalentwicklung abschließen, bevor sie in die Differenzierungsphase eintreten können. So erreichen die Scheiben ihre Differenzierungsbereitschaft in einem Zeitpunkt, in dem sich in den Wirtswieibchen das adulte Humoralmilieu bereits eingestellt hat.

Werden Imaginalscheiben, die während 22 Tagen in einem Adultwirt waren, in Larven transplantiert, so metamorphosieren nur noch wenige mit der Wirtslarve. Einige Scheiben werden in der Larve aufgelöst; die restlichen behalten ihren larvalen Charakter. Dieses Resultat entspricht keineswegs unseren Erwartungen. *Drosophila*-Scheiben können während Jahren in Adultwirten kultiviert werden, ohne daß dadurch die Entwicklungspotenzen eingeschränkt würden (vgl. HADORN, 1966). Die Gründe für dieses unterschiedliche Verhalten kennen wir nicht. Es dürften aber bei *Culex*-Implantaten im Adultwirt doch so starke Veränderungen eintreten, daß der larvale und metamorphosebereite Zustand nicht mehr zu restituieren ist. Jedenfalls ist das Milieu der adulten *Culex*-Weibchen kein ideales Kulturmedium für larvale Blasteme aus Imaginalscheiben.

Literatur

- BODENSTEIN, D.: Hormones and tissue competence in the development of *Drosophila*. Biol. Bull. **84**, 34—59 (1943b).
 A study of relationship between organ and organic environment in the postembryonic development of the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*). 45th rep. connecticut state Entomol. Bull. **501**, 100—114 (1946).
 CHEN, P. S.: Studies on the protein metabolism of *Culex pipiens* L. J. ins. Physiol. **2**, 38—51 (1958).
 CHRISTOPHERS, S. R.: *Aedes aegypti* L. the yellow fever mosquito. Its life history, bionomics and structure. Cambridge: University Press 1960.
 EPHRUSSI, B., and G. W. BEADLE: A technique of transplantation for *Drosophila*. Amer. Naturalist **70**, 218—225 (1936).
 GARCIA-BELLIDO, A.: Pattern reconstruction by dissociated imaginal disc cells of *Drosophila melanogaster*. Develop. Biol. **14**, 278—306 (1966).
 GEHRING, W.: Übertragung und Änderung der Determinationsqualitäten in Antennenscheiben-Kulturen von *Drosophila melanogaster*. J. Embryol. exp. Morph. **15**, 77—111 (1966).
 GEIGER, H. R.: Untersuchungen über freie Aminosäuren während der Adultentwicklung von *Culex pipiens* und *Culex fatigans* und deren Einfluß auf die Eireifung. Rev. suisse Zool. **68**, 583—626 (1961).
 HADORN, E.: Differenzierungsleistungen wiederholt fragmentierter Teilstücke männlicher Genitalscheiben von *Drosophila melanogaster* nach Kultur in vivo. Develop. Biol. **7**, 617—629 (1963).
 — Bedeutungseigene und bedeutungs fremde Entwicklungsleistungen proliferierender Primordien von *Drosophila* nach Dauerkultur in vivo. Rev. suisse Zool. **71**, 99—115 (1964).
 — Ausfall der Potenz zur Borstenbildung als „Erbmerkmal“ einer Zellkultur von *Drosophila melanogaster*. Z. Naturforsch. **20b**, 290—292 (1965a).

- HADORN, E.: Problems of determination and transdetermination. Brookhaven Symp. Biol. **18**, 148—161 (1965b).
- Konstanzt, Wechsel und Typus der Determination und Differenzierung in Zellen aus männlichen Genitalanlagen von *Drosophila melanogaster* nach Dauerkultur *in vivo*. Develop. Biol. **13**, 424—509 (1966).
- G. BERTANI u. J. GALLERA: Regulationsfähigkeit und Feldorganisation der männlichen Genital-Imaginalscheibe von *Drosophila melanogaster*. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **144**, 31—70 (1949).
- , u. D. BUCK: Über Entwicklungsleistungen transplantierter Teilstücke von Flügel-Imaginalscheiben von *Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. **69**, 302—310 (1962).
- , u. A. GARCIA-BELLIDO: Zur Proliferation von *Drosophila*-Zellkulturen im Adultmilieu. Rev. suisse Zool. **71**, 576—582 (1964).
- , u. H. GLOOR: Transplantationen zur Bestimmung des Anlagemusters in der weiblichen Genital-Imaginalscheibe von *Drosophila*. Rev. suisse Zool. **53**, 495—501 (1946).
- HALCROW, J. G.: Preliminary observations on some possible tarsal sensillae of English mosquitoes. Entomologist **86**, 104—105 (1953).
- IMMS, A. D.: On the larval and pupal stages of *Anopheles maculipennis*, MEIGEN. Part II. The larva. Parasitology **1**, 103—133 (1908).
- LÜÖND, H.: Untersuchungen zur Mustergliederung in fragmentierten Primordien des männlichen Geschlechtsapparates von *Drosophila séguyi*. Develop. Biol. **3**, 615—656 (1961).
- LÜSCHER, M.: The regeneration of legs in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). J. exp. Biol. **25**, 334—343 (1948).
- MAGNUSSEN, K.: Untersuchungen zur Entwicklungsphysiologie des Schmetterlingsflügels. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **128**, 447—479 (1933).
- MARSHALL, J. F.: The British mosquitoes. New York: Johnson Reprint Corporation 1966.
- MENON, M. A. U.: On certain little-known external characters of adult mosquitoes and their taxonomic significance. Proc. ent. Soc. London **20**, 63—71 (1951).
- NÖTHIGER, R.: Differenzierungsleistungen in Kombinat, hergestellt aus Imaginalscheiben verschiedener Arten, Geschlechter und Körpersegmente von *Drosophila*. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **155**, 269—301 (1964).
- , and G. SCHUBIGER: Developmental behaviour of fragments of symmetrical and asymmetrical imaginal discs of *Drosophila melanogaster* (Diptera). J. Embryol. exp. Morph. **16**, 355—368 (1966).
- OELHAFEN, F.: Zur Embryogenese von *Culex pipiens*: Markierungen und Exstirpationen mit UV-Strahlenstich. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **153**, 120—157 (1961).
- PAUL, H.: Transplantation und Regeneration der Flügel zur Untersuchung ihrer Formbildung bei einem Schmetterling mit Geschlechtsdimorphismus, *Orygia antiqua* L. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **136**, 64—111 (1937).
- PRASHAD, B.: The development of the dorsal series of thoracic imaginal buds of the mosquito and certain observations on the phylogeny of the insects. Ind. J. med. Res. **5**, 641—655 (1918).
- RISLER, H.: Polyploidie und somatische Reduktion in der Larvenepidermis von *Aedes aegypti* L. (Culicidae). Chromosoma (Berl.) **10**, 184—209 (1959).
- SCHLÄPFER, T.: Der Einfluß des adulten Wirtsmilieus auf die Entwicklung von larvalen Augenantennen-Imaginalscheiben von *Drosophila melanogaster*. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **154**, 378—404 (1963).
- SCHUBIGER, G.: Anlageplan, Determinationszustand und Transdeterminationsleistungen der männlichen Vorderbeinscheibe von *Drosophila melanogaster*. Wilhelm Roux' Archiv **160**, 9—40 (1968).
- , u. E. HADORN: Auto- und allotypische Differenzierungen aus *in vivo*-kultivierten Vorderbeinblastemen von *Drosophila melanogaster*. Develop. Biol. **17**, 584—602 (1968).
- TOBLER, H.: Zellspezifische Determination und Beziehung zwischen Proliferation und Transdetermination in Bein- und Flügelprimordien von *Drosophila melanogaster*. J. Embryol. exp. Morph. **16**, 609—633 (1966).
- UBISCH, V., L.: Über Flügelregeneration beim Schwammspinner *Lymantria dispar*. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **31**, 637—653 (1911).

- URSPRUNG, H.: Untersuchungen zum Anlagemuster der weiblichen Genitalscheibe von *Drosophila melanogaster* durch UV-Strahlenstich. Rev. suisse Zool. **64**, 303—311 (1957).
— Fragmentierungs- und Bestrahlungsversuche zur Bestimmung von Determinationszustand und Anlageplan der Genitalscheiben von *Drosophila melanogaster*. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **151**, 504—558 (1959).
VOGT, M.: Zur labilen Determination der Imaginalscheiben von *Drosophila*. I. Verhalten verschiedener Imaginalanlagen bei operativer Defektsetzung. Biol. Zbl. **65**, 223—238 (1946a).
WIGGLESWORTH, V. B.: The principles of insect physiology. London: Methuen & Co. Ltd. 1965.
WILDERMUTH, H.: Musterbildung und Transdeterminationsmechanismus in homo- und heteroplastischen Transplantaten der Rüsselprimordien von *Drosophila*. Wilhelm Roux' Archiv **160**, 41—64 (1968).

Dr. WERNER SPINNER

Zoologisch-vergl. anatomisches Institut der Universität Zürich
Künstlergasse 16

CH-8006 Zürich, Schweiz

Curriculum vitae

Als Bürger von Aeugst a.A. wurde ich, WERNER SPINNER, am 24. April 1934 in Obfelden (ZH) geboren. Vom Frühjahr 1952 an besuchte ich das Evangelische Lehrerseminar Zürich, wo ich im Frühjahr 1956 die Abschlußprüfung bestand. Anschließend trat ich in das Evangelische Oberseminar Zürich-Untersträß ein und erwarb 1957 das Fähigkeitszeugnis für Primarlehrer des Kantons Zürich. Im folgenden Jahr unterrichtete ich an den Primarschulen in Höri und Rümlang. Vom Wintersemester 1957/58 bis und mit Sommersemester 1968 war ich an der Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich immatrikuliert. Ich besuchte Vorlesungen und Kurse der folgenden Dozenten: AKERT, ANDERS, BENZ, BIEGERT, BRINKMANN, BURLA, CHEN, DAUMER, ERNST-SCHWARZENBACH, FRITZ-NIGGLI, GROB, HADORN, HEDIGER, HELBLING, KARRER, LEUPOLD, KUHN-SCHNYDER, MARKGRAF, MARTHALER, OBERHOLZER, RUTISHAUSER, SAUTER, SCHLITTLER, SCHMID, SCHÜEPP, SCHUMACHER, SCHULTZ, SCHWEIZER, SLOWIK, STEINER, SUTER, TARDENT, TÖNDURY, VISCONTINI, VAN DER WAERDEN, WANNER, WEBER, WITZIG, ZELLER und ZÜLLIG. 1963 wurde mir das Diplom als Naturwissenschaftler mit dem Hauptfach Zoologie verliehen. Die vorliegende Dissertation stand unter der Leitung von Prof. Dr. E. HADORN. Von 1963 bis 1965 war ich Assistent am Zoologisch-vergleichend anatomischen Institut der Universität Zürich. Seit dem Frühjahr 1965 bin ich als Hauptlehrer für Biologie an der Höheren Töchter Schule Zürich tätig.

